

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 10-323646

(43)Date of publication of application : 08.12.1998

(51)Int.Cl. **B09B** 3/00
 A62D 3/00
 B09C 1/10
 C02F 3/34
 C12N 1/14
 // (**C12N** 1/14
 C12R 1:645)

(21)Application number : 09-133848

(71)Applicant : FUKUOKA PREF GOV

(22)Date of filing : 23.05.1997

(72)Inventor : TAKADA SATOSHI
 MATSUEDA TAKAHIKO

(54) DECOMPOSITION PROCESS FOR CHLORINE COMPOUND BY MICROBE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a process for decomposing a plurality of chemical substances simultaneously by adding microbes of p.chrysosporium having lignin into a liquid containing simultaneously polychlorinated-dibenzo-paradioxins and polychlorinated biphenyl (PCBs).

SOLUTION: Microbes of p.chrysosporium provided with lignin resolution are added into a liquid containing a plurality of chemical substances selected out of a group formed of polychlorinated-dibenzo-paradioxins(PCDDs) substituted particularly by chlorine of 4 or more and/or polychlorinateddibenzofuran(PDCFs) and polychlorinated biphenyl(PCBs) to decompose a plurality of chemical substances.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C): 1998,2000 Japanese Patent Office

(12) 公開特許公報 (A)

(11)【公開番号】特開平10-323646
(43)【公開日】平成10年(1998)12月8日

(51)【国際特許分類第6版】

B09B 3/00
A62D 3/00 ZAB
B09C 1/10 ZAB
C02F 3/34
C12N 1/14
/(C12N 1/14
C12R 1:645)

【F I】

B09B 3/00 A
A62D 3/00 ZAB
C02F 3/34 Z
C12N 1/14 E
B09B 3/00 ZAB E

【審査請求】未請求【請求項の数】3【出願形態】OL【全頁数】8

(21)【出願番号】特願平9-133848

(22)【出願日】平成9年(1997)5月23日

(71)【出願人】

【識別番号】591065549

【氏名又は名称】福岡県

【住所又は居所】福岡県福岡市博多区東公園7番7号

(72)【発明者】

【氏名】高田 智

【住所又は居所】福岡県太宰府市向佐野迎田39 福岡県保健環境研究所内

(72)【発明者】

【氏名】松枝 隆彦

【住所又は居所】福岡県太宰府市向佐野迎田39 福岡県保健環境研究所内

(74)【代理人】

【弁理士】

【氏名又は名称】田中 宏 (外1名)

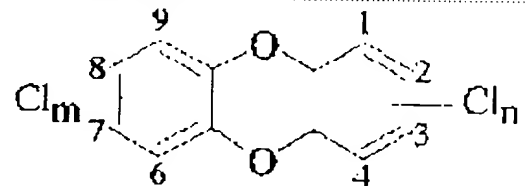
文献No. B-1

(54)【発明の名称】微生物による塩素系化合物の分解方法

(57)【要約】

【目的】 リグニン分解能をもつ微生物、*P. chrysosporium* を、ダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール (PCBs) を同時に含む液に加えて前記複数の化学物質を同時に分解する方法の提供。

【構成】 リグニン分解能をもつ微生物、*P. chrysosporium* をダイオキシン類、特に4を越える塩素で置換されたポリ塩素化ジベンソパラジオキシン (PCDDs) 及び／又はポリ塩素化ジベンソフラン (PCDFs) およびポリ塩化ビフェニール (PCBs) からなる群から選択される複数の化学物質を含む液に加えて前記複数の化学物質を分解する方法。



ポリ塩素化ジベンソパラジオキシン
(PCDDs)

$$m + n = 1 - 8$$

【特許請求の範囲】

【請求項1】 微生物としてリグニン分解能を有する微生物を用

い、これをダイオキシン類およびポリ塩素化ビフェニール (PCBs) を同時に含む被処理系に加えて、これらの化合物を前記微生物により同時に分解することを特徴とする微生物による塩素系化合物の分解方法。

【請求項2】 微生物として *Phanerochaete chrysosporium* を用い、これをダイオキシン類およびポリ塩化ビフェニール (PCBs) を同時に含む被処理系に加えて、これらの化合物を前記微生物により同時に分解することを特徴とする微生物による塩素系化合物の分解方法。

【請求項3】 被処理系が都市焼却場の焼却灰からのものであることを特徴とする請求項1または2に記載の分解方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は、焼却灰、産業廃棄物、土壌、工業排水、廃棄物埋立地浸出水などに含まれるダイオキシン類やPCBs類をリグニン分解能をもつ微生物を用いて分解する方法に関する。

【0002】

【従来技術】

【0003】 ダイオキシン類は奇形、ガン、免疫不全、内分泌障害などを引き起こすといわれ、化学物質の中

添加量は各々500 pgであった。13C-PCBsとは3,3',4,4'-四塩素化、3,3',4,4',5-五塩素化及び3,3',4,4',5,5'-六塩素化13C12を用いた。内部標準物質の添加量は100 pgであった。前記試料中の未分解のダイオキシン類及びPCBsを定量には、シングルイオンモニタリングモードを用い、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計を用いた。

【0013】ガスクロの条件は、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計にはガスクロマトグラムにはHP5890シリーズIIを取り付けたフィニガンマッ95を用いた。ガスクロカラムとして、スベルコ社製SP-2331ヒューズシリカキャピラリーカラム(長さ60メートル、内径0.32ミリメートル、膜厚0.2マイクロメートル)を用いた。質量分析の条件は加速電圧:5KV、分解能:7500、イオン化電圧:70eV、イオン化電流80マイクロアンペア、イオンマルチプライアー:2,3KV、イオン源温度:260℃であった。カラム温度は130℃に1分間保持し、1分3℃の割合で上昇し、240℃まで上げ、15分間保持した後、260℃まで1分間20℃の割合で上昇し、30分間保持した。ダイオキシン類の定量はBallschmitter(J.High Chromatogr15 260 (1992))及びRyan等(J.Chromatogr 546 131 (1991))の方法を参考にして定量した。

【0014】該方法の概要は、高分解能ガスクロマトグラフ質量分析によってダイオキシン類及びPCBsとして同定された各モニタールイオンのガスクロマトグラフのピークの面積から計算した。また、分解率の計算は滅菌して24日間行った2つの対照群の平均値と生分解を行った3試料の平均値とを比較して求めた。試料中の各成分の含量(n g)=試料中の各成分のガスクロマトグラフの面積値÷各々の対応する塩素化体の内部標準物質(13C12化合物)のガスクロマトグラフの面積値×内部標準物質の添加量÷ファクター ここでファクターとは高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計の応答比である。すなわち、ダイオキシン類およびPCBsの内部標準物質(13C12化合物)として加えたものと同じ化学構造の合成品(native)を等量混ぜた溶液を高分解能ガスクロマトグラフ質量分析計に注入して求めた。ファクター=標準品の面積値÷内部標準面積値(13C) このようにして各資料の含量を求め、次式により各成分の分解率を求めた。分解率(%)=100-生分解試料中の未分解の含量(n=3)÷対照群の含量の平均値(n=2)×100 分解率(%)は滅菌した2つの対照との比較で計算した。また、PCBsについては四、五及び六塩素化体として確認されたガスクロマトグラフ上のピークについて、分解率(%)の計算をダイオキシン類と同様に行なった。フラグメントイオンは特有のパターンを示す。そのことを利用し、分子イオン及び分子イオン+2をモニタリングし、PCBsとしての確認を行った。即ち、四塩素化物の場合、289.922と291.919、五塩素化物の場合、323.883と325.881及び六塩素化物の場合、357.844と359.842をモニタリングした。例として四塩素化物として確認したガスクロマトグラムを図-1に示した。それぞれ、PCBsとして確認された物質について定量した。

【0015】リグニン分解能をもつ微生物、P.chrysosporium IFO31249によるダイオキシン類及びPCBsの分解結果を示す。これは、ダイオキシン類およびPCBs混合物を含む液に、リグニン分解能をもつ微生物P.chrysosporium IFO31249を添加して、混合物中における各化合物に対する前記微生物が高い分解率を示すものである。四塩素化体以上のPCDDs及びPCDFsにはそれぞれ49個及び87個、合計136個の化合物が存在し、シングルイオンモニタリングモードによる高分解能ガスクロマトグラフ質量分析に用いたSP-2331ガスクロカラムでは136個の化合物を全て単一のピークとして分離はできない。例えばPCDDsの六塩化物及びPCDFsの六塩化物にはそれぞれ10個及び16個の異性体が存在する。これらの塩化物の、微生物P.chrysosporium IFO31249による、分解結果を表-1～表6に示している。

【0016】表-1の六塩素化ジベンゾパラジオキシンの場合ピーク1及び2にはそれぞれ3個、2個の異性体が含まれ、残りの5つの異性体は単一のピークとしてピーク3から7に分離されている(図-2参照)。単一のピークにおける分解率は全て分解され、約42%から74%であり、標準偏差も小さい。これらのことから、ピーク1及び2に含まれる六塩化物の特定の異性体が分解されなかったことは考えにくい。したがって、六塩素化ジベンゾパラジオキシンの全ての10個の異性体が分解されたと考える。

【0017】表-2に示した六塩素化ジベンゾフランの結果からも同様に全ての異性体が分解されたと見える。他の塩素数が異なるダイオキシン類についても同じ様な結果が得られたことから、リグニン分解能をもつ微生物はダイオキシン類の全ての化合物を分解することができるものといえる。微生物P.chrysosporium IFO31249による、ダイオキシン類の全体の結果を塩素数別に表-3及び表-4に示した。ポリ塩素化ジベンゾパラジオキシンでは約45%から55%、ポリ塩素化ジベンゾフランでは約41%から59%分解されている。このように短期間(24日間)でダイオキシン類が分解されるのは細菌などの他の微生物にはみられない結果である。

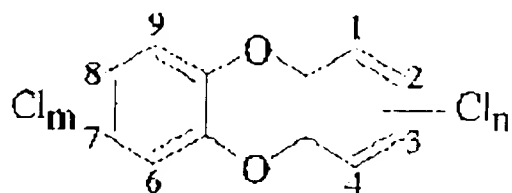
【0018】P.chrysosporium IFO31249によるPCBsの塩化物の分解結果を表-5及び表-6に示す。PCBsの塩化物の分解結果を表-5に示す。この表でピーク番号12は3,3',4,4'-四塩素化ビフェニールであり、27%分解されている。その他のピークは未同定であるが、全てのピークに属する四塩化物が分解され、分解率は16から85%である。また、全体の結果を表-6に示している。五塩化物は8本のピークに分離され、分解率は35から72%の分解率であった。また、六塩化物は20本のピークに分離され、分解率は25から80%の分解率であった。なお、3,3',4,4',5-五塩素化および3,3',4,4',5,5'-六塩素化ビフェニールの分解率はそれぞれ36%及び33%であった。低窒素培地以外の高窒素培地及びポテトデキストロス寒天培地でのダイオキシン類の分解ではそれぞれ平均6日間の培養で39%及び46%分解された。以上のようにリグニン分解能をもつ微生物のP.chrysosporium IFO31249はダイオキシン類やPCBsを全て分解することができ、有用な微生物であることが理解される。

【0019】また、参考のためにPhanerochaete sordida YK-624によって30日間の培養でポリ塩素化ジベンゾパラジオキシンでは四塩化物:49%、五塩化物:51%、六塩化物:64%、七塩化物:67%、八塩化物:61%、ポリ塩素化ジベンゾフランでは四塩化物:51%、五塩化物:55%、六塩化物:62%、七塩化物:68%、八塩化物:74%分解された(1997年3月28日日本薬学会発行の「日本薬学会第117年会講演要旨集3」参照)。

【0020】ダイオキシン類及びPCBsの構造式

【0021】

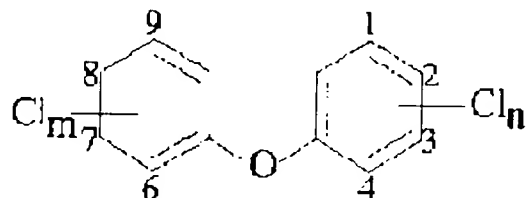
【化1】



ポリ塩素化ジベンゾパラジオキシン
(PCDDs)

$$m + n = 1 - 8$$

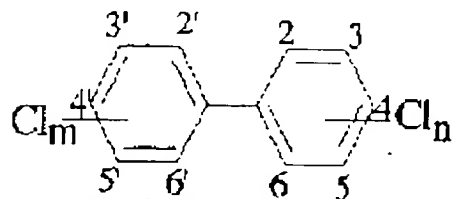
【化 2】



ポリ塩素化ジベンゾフラン
(PCDFs)

$$m + n = 1 - 8$$

【化 3】



ポリ塩素化ビフェニール
(PCBs)

$$m + n = 1 - 10$$

【 0 0 2 2 】
【表 1】

P. chrysosporium IFO31249による

六塩素化ジベンゾパラジフィン分解結果

ピーク 番号	塩素置 換位置	生分解に 供した量(ng)	分解率(%)	標準偏差
1	1,2,3,4,6,8 1,2,4,6,7,9 1,2,4,6,8,9	1.69	47.06	6.90
2	1,2,3,6,7,9 1,2,3,6,8,9	0.87	50.51	2.78
3	1,2,3,4,7,8	0.12	63.09	5.41
4	1,2,3,6,7,8	0.18	74.64	1.09
5	1,2,3,4,6,9	0.01	71.14	7.60
6	1,2,3,7,8,9	0.24	43.18	6.08
7	1,2,3,4,6,7	0.28	42.09	2.26

ピーク番号はSP-2331によって分離された

ガスクロマトグラム上のピーク番号

分解率(%) (n=3)は減菌対照群(n=2)から補正した値。

【0023】
【表2】

P. chrysosporium IFO31249による
六塩素化ジベンゾフランの分解結果の一例

ピーク 番号	塩素置 換位置	生分解に 供した量(ng)	分解率(%)	標準偏差
1	1,2,3,4,6,8	0.24	66.86	1.88
2	1,3,4,6,7,8 1,3,4,6,7,9	0.51	53.58	5.43
3	1,2,4,6,7,8	0.37	58.37	5.33
4	1,2,4,6,7,9	0.22	53.71	3.85
5	1,2,3,4,7,8, 1,2,3,4,7,9	0.17	57.88	6.70
6	1,2,3,6,7,8	0.22	53.43	0.37
7	1,2,4,6,8,9	0.08	71.84	6.51
8	1,2,3,4,6,7	0.24	48.90	3.09
9	1,2,3,6,7,9	0.07	70.52	4.10
10	1,2,3,4,6,9, 1,2,3,6,8,9	0.17	47.58	4.77
11	1,2,3,7,8,9	0.10	53.97	4.18
12	1,2,3,4,8,9	0.07	72.22	6.45
13	2,3,4,6,7,8	0.73	52.81	3.30

ピーク番号はSP 2331によって分離された
ガスクロマトグラム上のピーク番号
分解率(%)は減菌対照群(n=2)から補正した値。

【0024】
【表3】

P. chrysosporium IFO31249による
オジベンゾフランの分解結果の一例

	異性体 の数	生分解に供 した量(ng)	分解率(%)	標準偏差
四塩素化物	22	1.99	45.19	1.19
五塩素化物	14	2.49	50.11	0.14
六塩素化物	10	3.39	55.96	5.51
七塩素化物	3	1.02	52.81	3.54
八塩素化物	1	0.81	44.17	7.50

【0025】
【表4】

P.chrysosporium IFO31249による

ポリ塩素化ジベンゾフランの分解結

	異性体 の数	生分解に供 した量(ng)	分解率(%)	標準偏差
四塩素化物	38	1.90	50.51	2.73
五塩素化物	28	2.99	41.54	2.61
六塩素化物	16	3.19	59.36	2.46
七塩素化物	4	1.37	54.07	2.88
八塩素化物	1	0.54	52.49	5.50

【0026】
【表5】

P.chrysosporium IFO31249による

四塩素化ビフェニールの分解結果の一例

ピーク 番号	保持時間 (分:秒)	生分解に供 した量(μg)	分解率(%)	標準偏差
1	16:22	9.6	50.70	0.66
2	16:50	7.8	88.86	0.10
3	17:21	30.3	23.57	10.36
4	17:31	40.2	16.76	4.09
5	17:50	9.6	50.88	1.06
6	18:26	8.7	85.39	0.41
7	19:05	17.6	38.01	15.16
8	19:20	32.2	62.81	8.35
9	20:02	14.2	38.03	1.60
10	20:51	13.6	39.84	9.54
11	21:32	16.2	76.07	5.93
12	23:10	55.6	27.44	0.43

ピーク番号はSP-2331によって分離された

ガスクロマトグラム上のピーク番号

【0027】
【表6】

P. chrysosporium T F O31249による
ポリ塩素化ビフェニールの分解結果の一例

	生分解に供した量(μg)	分解率(%)	標準偏差
四塩素化物	0.26	57.23	16.03
五塩素化物	0.34	53.61	1.56
六塩素化物	0.89	43.79	3.33

【0028】

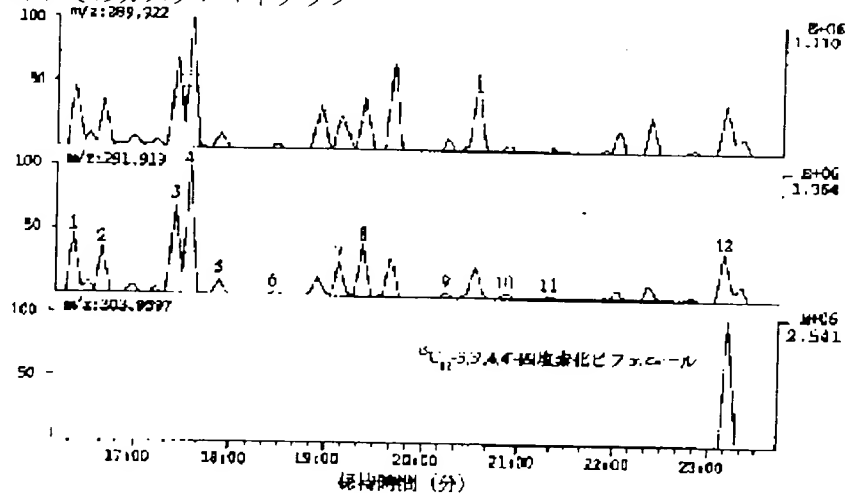
【発明の効果】大気や土壌環境を広範囲に汚染して社会問題となっているダイオキシン類のポリ塩素化ジベンゾパラジオキシン(PCDDs)及びポリ塩素化ジベンゾフラン(PCDFs)、特にこれらの骨格の2,3,7,8位が塩素で置換された化合物は毒性が高く、環境汚染の問題となっており、また、PCBsには209の化合物が存在し、それらの中で、オルト位に塩素をもっていない化合物、コプラナーPCBsもダイオキシン類と同様に毒性が高く社会問題となっているので、これらの化合物を同一の微生物によって分解する方法の発明は、環境改善に大きな効果をもたらす。

【図面の簡単な説明】

【図1】PCBsについてのガスクロマトグラフ

【図2】六塩素化ジベンゾパラジオキシンについてのガスクロマトグラフ

【図1】PCBsについてのガスクロマトグラフ



【図2】六塩素化ジベンゾパラジオキシンについてのガスクロマトグラフ

